椰扁甲啮小蜂寄生后椰心叶甲蛹血淋巴蛋白质双向电泳图谱分析

刘 奎, 林健荣[2,*], 符悦冠[1], 彭正强[1], 金启安[1]

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,农业部热带农林有害生物入侵监测与控制重点开放实验室,海南儋州 571737;
2. 华南农业大学动物科学学院,广州 510642)

摘要: 分析昆虫被寄生蜂寄生后血淋巴蛋白质组分及组分含量变化,从蛋白质水平分析寄生蜂寄生引起寄主昆虫的生理变化,有利于探索寄生蜂调控寄主的机理。以椰心叶甲 *Brontispa longissima* 和椰扁甲啮小蜂 *Tetrastichus brontispae* 为研究材料,采用蛋白质双向电泳技术及图像分析技术分析了椰心叶甲蛹被椰扁甲啮小蜂寄生后不同时期血淋巴蛋白质图谱及其变化情况。结果表明:寄生后 0.5, 1, 2, 3 和 4 d,被寄生蛹血淋巴共检测到的蛋白斑点数分别为 982, 926, 712, 636 和 680 个,其中特异性蛋白斑点的数量分别为 650, 400, 336, 229 和 150 个;同期未被寄生蛹血淋巴共检测到的到的蛋白斑点数分别为 645, 817, 640, 873 和 940 个,其中特异性蛋白斑点的数量分别为 313, 291, 264, 466 和 410 个;被寄生蛹和同期未被寄生蛹能匹配的蛋白斑点分别为 332, 526, 376, 407 和 530 对。被寄生蛹血淋巴蛋白斑点数量的异常变化表明寄主的生理功能受到了严重的影响。

关键词: 椰扁甲啮小蜂; 椰心叶甲; 寄生; 血淋巴蛋白质; 双向电泳; 图谱分析

中图分类号: Q966 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2009)05-0588-07

Analysis of hemolymph protein patterns from *Brontispa longissima* (Coleoptera: Chrysomelidae) pupae parasitized by *Tetrastichus brontispae* (Hymenoptera: Eulophidae)

LIU Kui[1], LIN Jian-Rong[2,*], FU Yue-Guan[1], PENG Zheng-Qiang[1], JIN Qi-An[1] (1. Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural and Forest Invasive Alien Pest, Ministry of Agriculture, Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737, China; 2. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The comparison of hemolymph protein composition and content between the parasitized and unparasitized host will contribute to explore the regulating mechanism of parasitization. Using *Brontispa longissima* and *Tetrastichus brontispae* as experimental insects, the change of protein patterns from the parasitized and unparasitized *Brontispa longissima* pupae at different stages were analyzed using two dimensional gel electrophoresis (2-DE) and image analysis system. The results showed that at 0.5, 1, 2, 3 and 4 d after parasitization, 982, 926, 712, 636 and 680 protein spots were detected in the parasitized pupae respectively, of which 650, 400, 336, 229 and 150 were the specific protein spots; there were a total of 645, 817, 640, 873 and 940 protein spots in the unparasitized pupae, respectively, of which 313, 291, 264, 466 and 410 were the specific protein spots. Comparison result showed that 332, 526, 376, 407 and 530 pairs were matched in both the parasitized and unparasitized pupae at 0.5, 1, 2, 3 and 4 d after parasitization, respectively. The irregular changes in protein patterns suggest that the physiological function of host is affected seriously by the parasitism.

Key words: *Tetrastichus brontispae*; *Brontispa longissima*; parasitism; hemolymph protein; two dimensional electrophoresis; image analysis

基金项目: 农业部公益性项目(2004DIA4J012,2005DIB4J043);农业部成果转化项目(05EFN216900370);国家科技支撑项目(2006BAD08A18)

作者简介: 刘奎,男,1973 年 9 月生,博士,副研究员,主要从事农业昆虫与害虫防治的研究, E-mail: catas168@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: jrlin@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2008-12-15; 接受日期 Accpted: 2009-03-07

随着后基因组时代的到来,蛋白质组研究越来越受到国内外科学工作者的密切关注。作为蛋白组分析核心技术之一的双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)已受到广泛的重视与应用,成为当前蛋白质组研究的核心技术(Jungblut *et al.*, 1996)。蛋白质组学理论和技术的发展也为昆虫学科带来了新的思维方式和研究方向(黄志伟等,2007)。目前,蛋白质组学理论与技术已应用于昆虫发育生物学、昆虫种类鉴别、昆虫对病原微生物的免疫、昆虫抗药性机理和昆虫毒液组分分析等研究领域。

钟伯雄(1999)采用蛋白质组分析技术,研究了家蚕胚胎发育时期的基因表达情况,发现不同胚胎发育时期之间的蛋白质图谱相互间存在差异。杨松等(2004)用双向电泳技术分析比较雌性斯氏按蚊 *Anopheles stephensi* 感染约氏疟原虫 *Plasmodiura yoeliio* 后血淋巴蛋白差异,发现蛋白浓度和蛋白点的差异与硝喹诱导疟原虫卵囊黑化有关。李凯等(2005)用双向电泳图谱鉴别尸食性蝇类初孵幼虫。Vierstraete 等(2003)首次构建了果蝇 *Drosophila melanogaster* 血淋巴双向电泳图谱,并利用质谱分析技术鉴定了其中的 32 个蛋白点,丰富了昆虫蛋白质数据库。紧接着,Vierstraete 等(2004a,2004b)又采用双向电泳技术进一步对果蝇受细菌感染后血淋巴中瞬时释放的免疫蛋白质组(immune proteome)进行了研究。赵瑞君等(1996)应用蛋白质组分析技术,研究了家蝇 *Musca domestica* 的溴氰菊酯抗性品系与敏感品系蛋白表达特征,发现抗性品系至少有 3 个多肽点在敏感品系中未出现。曹梦林等(2000)和柳亦松等(2004)采用双向电泳技术分别对虎纹捕鸟蛛 *Selenocosmia huwena* 和大腹园蛛 *Araneus ventricosus* 的粗毒进行了分析。

目前,还未见到从蛋白质组水平,研究寄主昆虫被寄生蜂寄生后不同时期,寄主体内血淋巴蛋白质的组分与组分含量连续变化的研究报道。本研究采用蛋白质双向电泳技术及图谱比较分析技术对椰心叶甲蛹 *Brontispa longissima* 被椰扁甲啮小蜂 *Tetrastichus brontispae* 寄生后寄主血淋巴蛋白质进行了研究,分析了寄生后不同时期寄主血淋巴蛋白质组分与组分含量的连续变化,以期有助于揭示寄生蜂寄生对寄主昆虫的调控机理。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

在室内用新鲜椰子心叶饲养椰心叶甲,以化蛹 2 h 内的新鲜蛹供椰扁甲啮小蜂寄生。椰扁甲啮小蜂为实验室种群,羽化啮出后集中交配 24 h 并饲以 10% 蜂蜜水,挑单头于试管中,接入 1 头化蛹 2 h 内的新鲜蛹用棉花塞好管口,观察寄生情况,在已被寄生的玻管上做好记号。收集 2 h 内被寄生的蛹用于实验。

寄生后经过 0.5 d 的寄生蛹记为 0.5 日龄寄生蛹,同期未寄生蛹记为 0.5 日龄未寄生蛹;寄生后经过 1 d 的寄生蛹记为 1 日龄寄生蛹,同期未寄生蛹记为 1 日龄寄生蛹;寄生后经过 2 d 的寄生蛹记为 2 日龄寄生蛹,同期未寄生蛹记为 2 日龄未寄生蛹;寄生后经过 3 d 的寄生蛹记为 3 日龄寄生蛹,同期未寄生蛹记为 3 日龄蛹;寄生后经过 4 d 的寄生蛹记为 4 日龄寄生蛹,同期未寄生蛹记为 4 日龄未寄生蛹。

1.2　样品制备

于寄生后 0.5,1,2,3 和 4 d,分别收集寄生蛹和未寄生蛹血淋巴放入预先加少量苯基硫脲晶体的 Eppendorf 管中。4℃,8 000 r/min 下离心 10 min,取上清液保存于 -40℃ 备用。

1.3　蛋白质含量测定

参照詹显全等(2002)方法。取 1.2 所得上清液 5 μL,用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.7)稀释 200 倍。以考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白含量。蛋白质含量的测定是为确定双向电泳中第一向等电聚焦电泳的上样量做预备。

1.4　蛋白质双向电泳分析

第一向等电聚焦电泳(IEF)使用 IPGphor 等电聚焦仪,使用 18 cm, pH 3 ~ 10 的 IPG 干胶条,500 μg 上样量;第二向 SDS-PAGE 用 12.5% 的分离胶。电泳后凝胶银染显色参考谢锦云等(2003)的方法。

1.5　图像扫描和软件分析

用 Amersham Pharmacia Biotech 公司生产的 Image scaner 双向电泳凝胶专用透射扫描仪高精度扫描。采用 2-DE 图像分析软件 Image Master™2D Platinum 5.0 Software 进行分析,按说明书操作。

2　结果与分析

2.1　椰心叶甲寄生蛹与同期未寄生蛹血淋巴蛋白双向电泳分析

寄生后 0.5 - 4 d 的椰心叶甲寄生蛹和同期未寄生蛹的血淋巴蛋白双向电泳图谱如图 1。

使用 Image Master™2D Platinum 对 9.1 的图像进行分析,得到寄生后 0.5 - 4 d 的寄生蛹(P)和同期未寄生蛹(N)血淋巴的蛋白斑点数量和蛋白斑点相互匹配的数量如表 1。

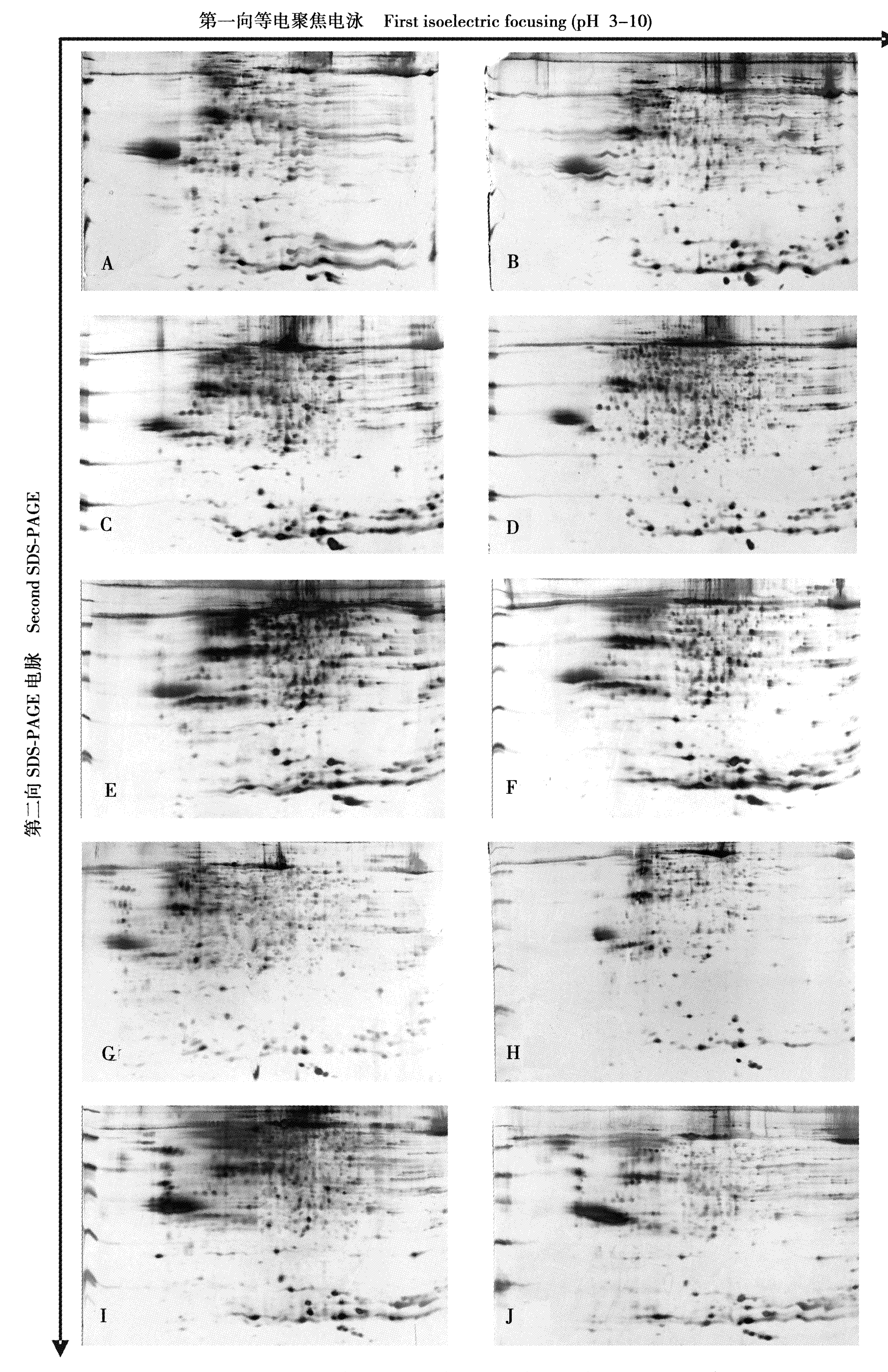


图 1 椰心叶甲寄生蛹和未寄生蛹血淋巴蛋白双向电泳图谱

Fig. 1 Two-dimensional gel electrophoresis pattern of hemolymph proteins from parasitized and unparasitized *Brontispa longissima* pupae

A: 0.5 日龄未寄生蛹 0.5 day-old un-parasitized pupae; B: 0.5 日龄寄生蛹 0.5 day-old parasitized pupae; C: 1 日龄未寄生蛹 1 day-old unparasitized pupae; D: 1 日龄寄生蛹 1 day-old parasitized pupae; E: 2 日龄未寄生蛹 2 day-old unparasitized pupae; F: 2 日龄寄生蛹 2 day-old parasitized pupae; G: 3 日龄未寄生蛹 3 day-old unparasitized pupae; H: 3 日龄寄生蛹 3 day-old parasitized pupae; I: 4 日龄未寄生蛹 4 day-old unparasitized pupae; J: 4 日龄寄生蛹 4 day-old parasitized pupae.

表 1　寄生蛹和未寄生蛹血淋巴蛋白斑点数量和相互匹配数量

Table 1　Number of hemolymph protein spots and the matched pairs of parasitized and non-parasitized pupae

蛋白斑点 Protein spots	寄生后天数 Days after parasitization (d)									
	0.5		1		2		3		4	
	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
蛋白斑点数量(个) Number of protein spots	645	982	817	926	640	712	873	636	940	680
特异蛋白斑点数量(个) Number of special protein spots	313	650	291	400	264	336	466	229	410	150
特异蛋白点所占比例(%) Percentage of specific protein spots	48.53	66.19	35.62	43.20	41.25	47.19	53.38	36.01	43.62	22.06
匹配蛋白点数(对) Number of matched spots (pairs)	332	526	376	407	530					

N: 未寄生蛹 Unparasitized pupae; P: 寄生蛹 Parasitized pupae.

从表 1 可见,椰心叶甲寄生蛹和未寄生蛹血淋巴蛋白质斑点数随发育历期不同而出现变化,寄生 0.5 ~2 d,寄生蛹血淋巴蛋白点数量高于同期未寄生蛹,在 3 ~4 d 时,寄生蛹血淋巴蛋白点数量低于同期未寄蛹;从特异蛋白点的数量变化来看,寄生后 0.5, 1 和 2 d,寄生蛹血淋巴特异蛋白点数量较多,分别是同期未寄生蛹的 2.08,1.37 和 1.27 倍;寄生后 3 和 4 d,寄生蛹血淋巴特异蛋白点数量较少,分别是同期未寄生蛹的 49.14% 和 36.59% 。

2.2　特异性蛋白斑点分析

椰心叶甲寄生蛹和同期未寄生蛹血淋巴蛋白双向电泳结果表明,两者的电泳图谱中存在一定数量的差异性特异蛋白斑点。对各特异性蛋白斑点的等电点和分子量信息进行统计整理,结果如图 2。

从分子量来看,寄生后 0.5,1,2,3 和 4 d 的寄生蛹血淋巴特异蛋白点中,10 ~30 kD 分子量的蛋白点分别占 14.92% ,23.00% ,17.86% ,13.97% 和 32.67% ;30 ~60 kD 的蛋白点分别占 38.31% ,77.00% ,46.13% ,33.19% 和 62.67% ;60 kD 以上蛋白点分别占 46.77% ,0,36.01% ,52.84% 和 4.67% ;日龄为 0.5,1,2,3 和 4 d 的未寄生蛹血淋巴特异蛋白点中,10 ~ 30 kD 分子量的蛋白点分别占 34.50% ,20.96% ,19.32% ,25.97% 和 28.29% ;30 ~60 kD 的蛋白点分别占 57.51% ,75.95% ,31.06% ,45.71% 和 70.24% ;60 kD 以上蛋白点分别占 7.99% ,3.09% ,49.62% ,28.33% 和 1.46% 。

从等电点来看,寄生后 0.5,1,2,3 和 4 d 的寄生蛹血淋巴特异蛋白点中,等电点在 7 ~10 间偏碱性区内的点分别占 77.23% , 67.00% , 50.76% , 47.16% 和 55.33% ;日龄为 0.5,1,2,3 和 4 d 的未寄生蛹血淋巴特异蛋白点中,等电点在 7 ~10 间偏碱性区内的蛋白点分别占 50.00% ,58.76% ,54.76% ,62.66% 和 56.59% 。

2.3　匹配蛋白斑点分析

为了进一步比较寄生蛹和同期未寄生蛹血淋巴共有蛋白点在量值上的差异,更好的分析估测同类蛋白质在寄生与同期未寄生间的差异情况,对 ImageMaster™ 2D Platinum 5.0 软件生成的匹配报告中量值相差 3 倍以上的匹配蛋白斑点数量进行统计,结果见表 2。

表 2　2-DE 图谱中寄生蛹与同期未寄生蛹量值相差 3 倍及 3 倍以上的蛋白点数量

Table 2　Number of the spots with 3 fold or more volume of parasitized pupae and contemporary non-parasitized pupae in 2-DE graph of hemolymph

比较类别 Type of comparison	相差倍数 Multiple of disparity						总数 Total number
	3 – 4	4 – 5	5 – 6	6 – 7	7 – 8	≥8	
P0.5 > N0.5	11	5	2	3	0	6	27
N0.5 > P0.5	16	7	6	3	3	8	43
P1 > N1	28	9	8	3	4	4	56
N1 > P1	17	7	5	3	1	12	45
P2 > N2	7	8	4	3	3	11	36
N2 > P2	16	5	7	2	2	1	33
P3 > N3	11	8	3	5	0	4	31
N3 > P3	27	21	3	4	4	4	63
P4 > N4	16	8	2	3	2	6	37
N4 > P4	44	23	8	8	4	16	103

N0.5:0.5 日龄未寄生蛹; P0.5: 0.5 日龄寄生蛹;余此类推。N0.5: 0.5 day-old unparasitized pupae; P0.5: 0.5 day-old parasitized pupae. Others combined in the same logic.

从表 2 可见,寄生后 0.5,1,2,3 和 4 d,寄生蛹中血淋巴匹配蛋白点量值大于同期未寄生蛹 3 倍以

上的点的数量分别为 27,56,36,31 和 37 个;未寄生蛹中血淋巴匹配蛋白点量值大于同期寄生蛹 3 倍以上的点的数量分别为 43,45,33,63 和 103 个;寄生蛹和未寄生蛹匹配点的量值表明,在寄生 1 和 2 d 时,寄生蛹有更多高丰度蛋白的表达,而 0.5,3 和 4 d 时,未寄生蛹有更多高丰度蛋白的表达。

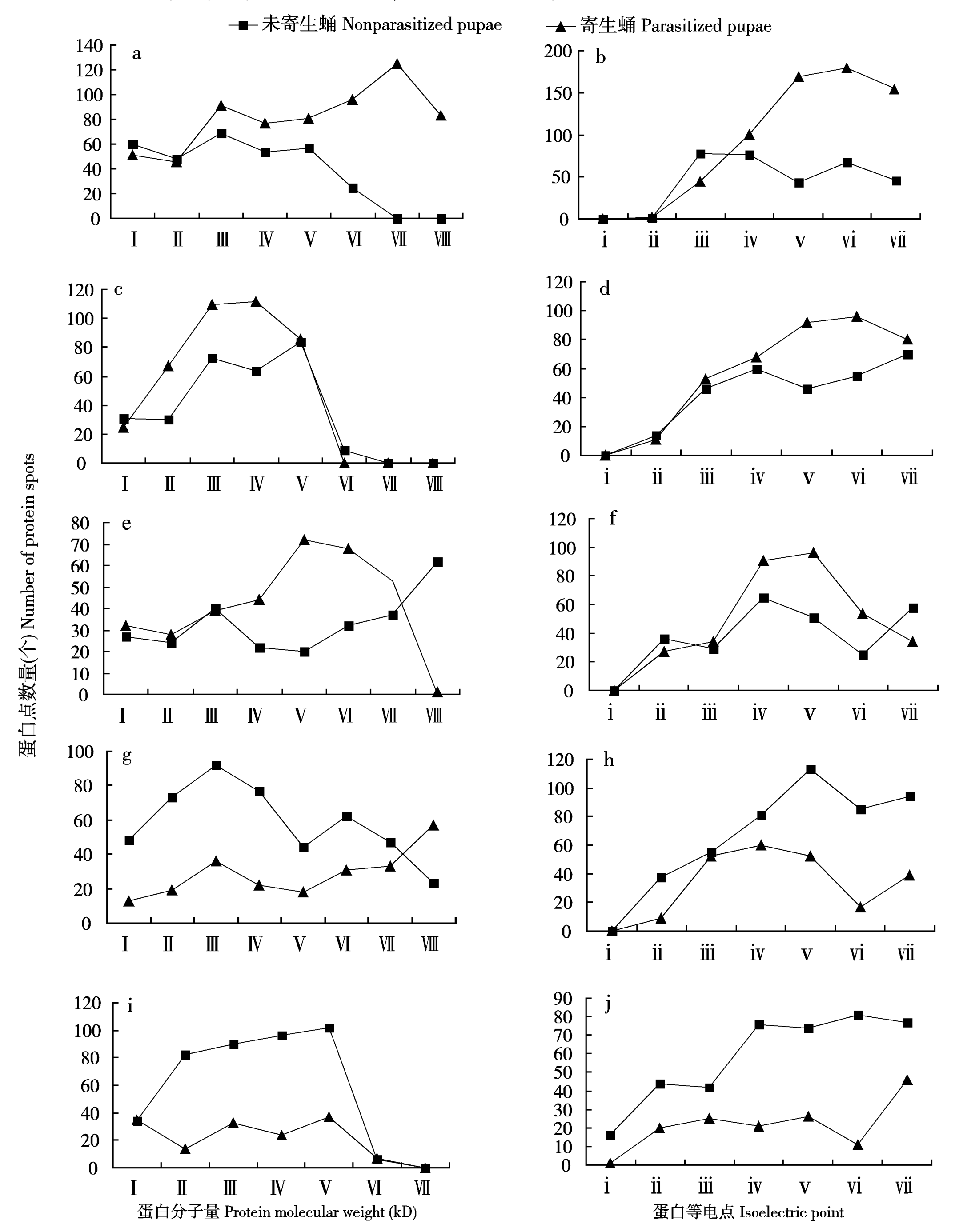


图 2 寄生蛹和同期未寄生蛹特异蛋白点分子量和等电点分布

Fig. 2 Molecular weight and isoelectric point distribution of specific protein spots of parasitized and unparasitized pupae

横坐标轴标记分子量含义如下 Protein molecular scale on *x*-coordinate: Ⅰ: 10 – 19.9 kD; Ⅱ: 20 – 29.9 kD; Ⅲ: 30 – 39.9 kD; Ⅳ: 40 – 49.9 kD; Ⅴ: 50 – 59.9 kD; Ⅵ: 60 – 69.9 kD; Ⅶ: 70 – 79.9 kD; Ⅷ: ≥80 kD; 横坐标标记等电点含义如下 Protein isoelectric point scale on *x*-coordinate: ⅰ: 3 – 3.9; ⅱ: 4 – 4.9; ⅲ: 5 – 5.9; ⅳ: 6 – 6.9; ⅴ: 7 – 7.9; ⅵ: 8 – 8.9; ⅶ: ≥9; a, c, e, g, i: 分别为寄生后 0.5, 1, 2, 3, 4 d 的寄生蛹和同期未寄生蛹特异蛋白点分子量分布 Molecular weight distribution of special spots of 0.5, 1, 2, 3 and 4 day-old parasitized and unparasitized pupae, respectively; b, d, f, h, j: 分别为寄生后 0.5, 1, 2, 3, 4 d 寄生蛹和同期未寄生蛹特异蛋白点等电点分布 Isoelectric point distribution of special spots of 0.5, 1, 2, 3 and 4 day-old parasitized and unparasitized pupae, respectively.

3 讨论

椰扁甲啮小蜂寄生后,引起椰心叶甲寄主蛹血淋巴蛋白质在组分和含量的变化。组分的变化,表现在特异蛋白数量的增减;含量的变化,表现在匹配蛋白含量的升降。

从血淋巴蛋白质数量来看,椰心叶甲寄生蛹和未寄生蛹血淋巴蛋白质组分随发育历期不同而出现变化。寄生后 0.5 – 2 d,寄生蛹血淋巴蛋白斑点数高于同期未寄生蛹, 在 3 – 4 d 时,寄生蛹血淋巴蛋白斑点数低于同期未寄蛹。说明内寄生蜂寄生后,虽然以寄主血淋巴为营养来源,但这种消耗并不是单纯引起寄主血淋巴蛋白质数量减少,而可能是产生了某种调节作用,使寄主在寄生前期产生应激反应而产生更多数量的蛋白质;但到了寄生后期,则可能由于寄生蜂取食增强和寄主活力减弱寄主血淋巴蛋白斑点数量有所减少。

从血淋巴特异蛋白的组成来看,被寄生蛹和同期未寄生蛹的血淋巴中均有一定数量不能相互匹配的特异蛋白质,而且也呈现与总蛋白质数量一样的变化规律,即在寄生后 0.5 – 2 d,寄生蛹血淋巴特异蛋白斑点数高于同期未寄生蛹;在 3 – 4 d 时,寄生蛹血淋巴特异蛋白斑点数低于同期未寄蛹。寄生蛹和同期未寄生蛹均含有特异蛋白的现象,预示着与未被寄生蛹相比,被寄生蛹血淋巴中既产生了新的蛋白,同时也缺失了部分蛋白,如果能够对这些特异的蛋白进行序列分析,将有利于了解这些蛋白的生理功能,为阐明内寄生蜂调控寄主的分子机理提供信息。

寄生蛹和未被寄生蛹匹配的蛋白点的量值比较表明,在寄生 1 和 2 d 时,寄生蛹有更多高丰度蛋白的表达。而 0.5,3 和 4 d 时,未寄生蛹有较多高丰度蛋白的表达。这种表达量上的差异,可能是受寄生而引起。Vierstraete 等(2004b)在将细菌注射到果蝇幼虫体内 25 min 后取血淋巴进行双向电泳,结果表明注射细菌的果蝇幼虫血淋巴较之同期正常果蝇幼虫有更多高丰度表达的蛋白,并认为是虫体免疫反应的结果,但未能连续比较不同时期的变化。而内寄生蜂在寄主体内的活动远比细菌要复杂得多,需要更多的研究来揭示寄生蛹和未寄生蛹 血淋巴蛋白含量差异的变化。

应该讲,上述研究只是对椰心叶甲寄生蛹和未寄生蛹血淋巴蛋白质组学研究的一个初步探索。若要从蛋白质组学的角度全面分析椰扁甲啮小蜂对椰心叶甲蛹的寄生作用,则需全面鉴定与寄生相关的功能蛋白,并进一步构建蛋白质图谱,才能更全面的从蛋白质水平上反映寄生作用对寄主的生理学效应。

参 考 文 献 (References)

Cao ML, Xie JY, Li XL, Huang RH, Liang SP, 2000. Two-dimensional gel electrophoresis of the crude venom from the spider *Selenocosmia huwena* and the identification of protein spots by microsequencing. *Chin. J. Biochem. Mol. Biol.*, 16(6): 755 – 758. [曹梦林,谢锦云,李小兰,黄仁槐,梁宋平, 2000. 虎纹捕鸟蛛粗毒双向凝胶电泳分析及部分蛋白质点的 N 端序列测定. 中国生物化学与分子生物学报,16(6): 755 – 758]

Huang ZW, Huang YP, Du JW, 2007. Application of proteomics in entomology research. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 37 – 41. [黄志伟,黄勇平,杜家纬,2007. 蛋白质组学方法在昆虫学研究中的应用. 昆虫知识,44(4): 37 – 41]

Jungblut P, Thiede B, Zimng-Arndf U, Müller EC, Scheler C, Wittmann-Liebold B, Otto A, 1996. Resolution power of two-dimensional electrophoresis and identification of proteins from gels. *Electrophesis*, 17: 839 – 847.

Li K, Ye GY, Hu C, 2005. Identification of early larvae of common carrion-breeding flies by two-dimensional gel electrophoresis finger map. *Acta Entomologica Sinica*, 48(4): 576 – 581. [李凯,叶恭银,胡萃,2005. 双向凝胶电泳图谱用于常见尸食性蝇类初孵幼虫的鉴别. 昆虫学报,48(4): 576 – 581]

Liu YS, Xie JP, Liang SP, 2004. Two-dimensional gel electrophoresis and ESI-Q-TOF analysis of the crude venom of spider *Araneus ventricosus*. *Life Science Research*, 8(2): 118 – 121. [柳亦松,谢锦平,梁宋平,2004. 大腹园蛛(*Araneus ventricosus*)粗毒双向电泳及质谱分析. 生命科学研究,8(2): 118 – 121]

Vierstraete E, Verleyen P, Baggerman G, D'Hertog W, Wan den Bergh G, Arcken L, De Loof A, Schoofs L, 2004. A proteomic approach for the analysis of instantly released wound and immune proteins in *Drosophila melanogaster* hemolymph. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(2): 470 – 475.

Vierstraete E, Verleyen P, Sas F, Van den Berghb G, De Loof A, Arckens L, Schoofs L, 2004. The instantly released *Drosophila* immune proteome is infection-specific. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 317: 1 052 – 1 060.

Vierstraete E, Cerstiaens A, Baggerman G, Van den Bergh G, De Loof A, Schoofs L, 2003. Proteomics in *Drosophila melanogaster*: First 2D database of larval hemolymph proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 304: 831 – 838.

Xie JY, Li XL, Chen P, Cao ML, Chen LB, Liang SP, 2003. Preliminary proteomic analysis of theproteins of thermo-sensivive genetic sterile rice anther. *Chin. J. Biochem. Mol. Biol.*, 19(2): 215 – 221. [谢锦云,李小兰,陈平,曹梦林,陈良碧,梁宋平, 2003. 温敏核不育水稻花药蛋白质组初步分析. 中国生物化学与分子生物学报,19(2): 215 – 221]

Yong S, Huang FS, Wu YZ, Kuang MS, 2004. Analysis of differentially expressed proteins from *Anopheles stephensi* related with *Plasmodium yoelii* oocyst melanization by two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF-mass spectrometry. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 26(1): 29 – 31. [杨松,黄复生,吴玉章,况明书,2004. 二维电泳-质谱分析斯氏按蚊中约氏疟原虫卵囊黑化相关的差异表达蛋白. 第三军医大学学报,26(1): 29 – 31]

ZhanXQ, Guan YJ, LiC, Chen ZC, Xie JY, Chen P, Liang SP, 2002. Differential proteomic analysis of human lung adenocarcinoma cell line A-549 and of normal cell line HBE. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 34(1): 50 – 56. [詹显全,关勇军,李萃,陈主初,谢锦云,陈平,梁宋平,2002. 人肺腺癌细胞 A-549 和正常细胞 HBE 的蛋白质组差异分析. 生物化学与生物物理学报,34(1): 50 – 56]

Zhao RJ, Li GJ, Yi L, Yin GR, Qiao ZD, 1996. Two eimensional electrophoresis analysis of proteins induced by deltamethrin in houseflies (*Musca domestica L*). *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 24(2): 54 – 57. [赵瑞君,李国锦,尹镭,殷国荣,乔中东,1996. 溴氰菊酯在家蝇体内诱导蛋白的二维电泳分析. 山西农业科学,24(2): 54 – 57]

Zhong BX, 1999. Characterization and stage-specific change of proteins during the embryonic development of silkworm *Bombyx mori*. *Acta Genetica Sinica*, 26(4): 627 – 633. [钟伯雄,1999. 家蚕胚胎发育时期的蛋白质变化及构造分析. 遗传学报,26(4): 627 – 633]

(责任编辑: 袁德成)